

**PEMBUATAN BIOETANOL SE CARA ENZIMATIS DARI
LIMBAH BATANG SAWIT (*Elaeis guineensis*) DENGAN
PENAMBAHAN SURFAKTAN
(*Enzymatic Bioethanol Production of Oil Palm Trunk Waste
(Elaeis guineensis) Using Surfactant*)**

Ina Winarni¹, Sri Komarayati¹ & T. Beuna Bardant²

¹ Pusat Penelitian dan Pengembangan Hasil Hutan

Jl. Gunung Batu No. 5, Bogor 16610, Telp. 0251 8633378, Fax. 0251 86333413

² Pusat Penelitian Kimia LIPI, Kawasan Puspitek Serpong,

Tangerang 15314, Telp. (021)7560929, Fax. (021) 7560549

E-mail : inawinarni@yahoo.com

Diterima 14 Januari 2015, Direvisi 29 Desember 2015, Disetujui 16 Maret 2016

ABSTRACT

Biomass is an alternative potential raw materials for biofuels or bioethanol production. This paper studies bioethanol production of the oil palm trunk waste. The trunk was divided into three parts; parenchyma (P), vascular bundle (V B) and the mixture of parenchyma and vascular bundle (P V B). Results show that sugar content reduction of all treatments (using surfactant) before fermentation is higher than that without surfactant (control) at 10 and 15 FPU/ g substrate of cellulase concentration. The highest ethanol content (1.63%) was recorded from parenchyma with 15 FPU/ g substrate of cellulase concentration.

Keywords: Lignocellulose, oil palm trunk waste, hydrolysis, cellulase, ethanol

ABSTRAK

Biomassa merupakan salah satu alternatif bahan baku potensial untuk produksi biofuel atau bioetanol. Tulisan ini mempelajari pembuatan bioetanol dari bahan lignoselulosa, yaitu limbah batang kelapa sawit. Batang sawit dibagi menjadi tiga bagian, yaitu parenkim (P), vaskular bundel (VB) dan campuran keduanya (PVB). Hasil penelitian menunjukkan, kadar gula pereduksi sebelum fermentasi semua perlakuan lebih tinggi dari sampel tanpa penambahan surfaktan (kontrol) pada konsentrasi selulase 10 dan 15 FPU/g substrat. Kadar etanol tertinggi (1,63%) berasal dari parenkim dengan konsentrasi selulase 15 FPU/g substrat.

Kata kunci: Lignoselulosa, limbah batang sawit, hidrolisis, selulase, etanol

I. PENDAHULUAN

Pada tahun 2005, konsumsi bahan bakar minyak khususnya bensin di Indonesia mencapai 100 juta barel dan meningkat sebesar 50% selama 6 tahun kemudian, yakni mencapai 165 juta barel pada tahun 2011. Optimalisasi sumber energi alternatif menjadi salah satu cara guna mengurangi dampak tersebut (Wiratmaja, 2010).

Sudah sejak lama para peneliti mencoba sumber bahan baku alternatif selain bahan baku fosil yang tidak dapat diperbaharui. Biomassa berupa lignoselulosa sampai saat ini masih diteliti sebagai bahan baku bioetanol, karena ketersediaannya yang melimpah di alam dan tidak berkompetisi dengan sumber pangan (pati/karbohidrat). Salah satu sumber lignoselulosa yang potensial adalah limbah batang sawit.

Luas perkebunan kelapa sawit di Indonesia dari tahun ke tahun semakin meningkat, terbukti dengan data yang dilaporkan oleh Badan Pusat Statistik Indonesia pada tahun 2012, luas perkebunan kelapa sawit di Indonesia mencapai 5.995.700 ha dan pada tahun 2013 mencapai 6.170.700 ha. Tanaman kelapa sawit memiliki batas umur produksi atau umur ekonomi yang relatif pendek, yaitu 25 tahun. Diatas umur tersebut, pohon harus diremajakan karena produksi buah akan menurun dan pohon sudah terlalu tinggi, sehingga sulit untuk dipanen (Nuryawan, Dalimuntheb, & Saragih, 2012).

Produksi kelapa sawit selain menghasilkan *crude palm oil*, juga menghasilkan limbah cair dan limbah padat berbahan selulosa. Peremajaan kelapa sawit selama kurun waktu 2001-2005 diperkirakan mencapai 32.155 ha/tahun, maka perkiraan limbah sawit yang dihasilkan sebesar 2.257.281 ton dan 514.480 ton per tahun. Dalam kurun waktu 2006-2010 ada kenaikan peremajaan lahan kelapa sawit seluas 89.965 ha/th, maka limbah batang sawit dan pelepah hasil peremajaan akan mencapai 6.315.543 ton dan 1.439.440 ton per tahun (Ridwansyah, Nasution, Titi, & Fauzi, 2007).

Batang kelapa sawit dapat digunakan untuk fermentasi alkohol atau bioetanol karena mengandung pati dan selulosa. Anderson dan Khalid (2000) menyatakan bahwa komponen kelapa sawit bagian kayu, daun dan tandan kosong mengandung selulosa yang cukup tinggi (batang 86,03%; daun 69,86%; tandan kosong 73,85%; dan akar 67,89%). Besarnya kandungan selulosa pada batang kelapa sawit menjadi acuan untuk kajian lebih lanjut pemanfaatannya sebagai bioetanol. Tulisan ini mempelajari pembuatan bioetanol dari limbah batang sawit.

II. BAHAN DAN METODE

A. Bahan dan Peralatan

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah batang sawit berasal Banten, Jawa Barat yang dibagi menjadi 3 bagian (parenkim, ikatan pembuluh dan campuran parenkim dan ikatan pembuluh). Bahan kimia yang digunakan adalah enzim selulase dan beta-glukosidase, ragi *Sacharomyces cerevisiae* dari merk komersial Fermipan, urea, dan NPK.

Peralatan yang digunakan antara lain alat hidrolisis, reaktor fermentasi, unit distilator, alat pengaduk, neraca, *hot plate*, *buret*, brix meter, pH meter, dan alat gelas/kaca.

B. Metode

Tahapan proses yang dilakukan pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1. Tahapan kerja yang dilakukan adalah sebagai berikut :

1. Uji proksimat

Dilakukan uji proksimat (analisis komposisi kimia) bahan baku, yaitu kadar air, kadar abu, kelarutan dalam air panas dan dingin, kadar ekstraktif (alkohol benzena 1:2), kadar pati, kadar lignin menggunakan metoda Norman dan Jenkin (Wise, 1944) dan kadar selulosa.

2. Persiapan bahan baku

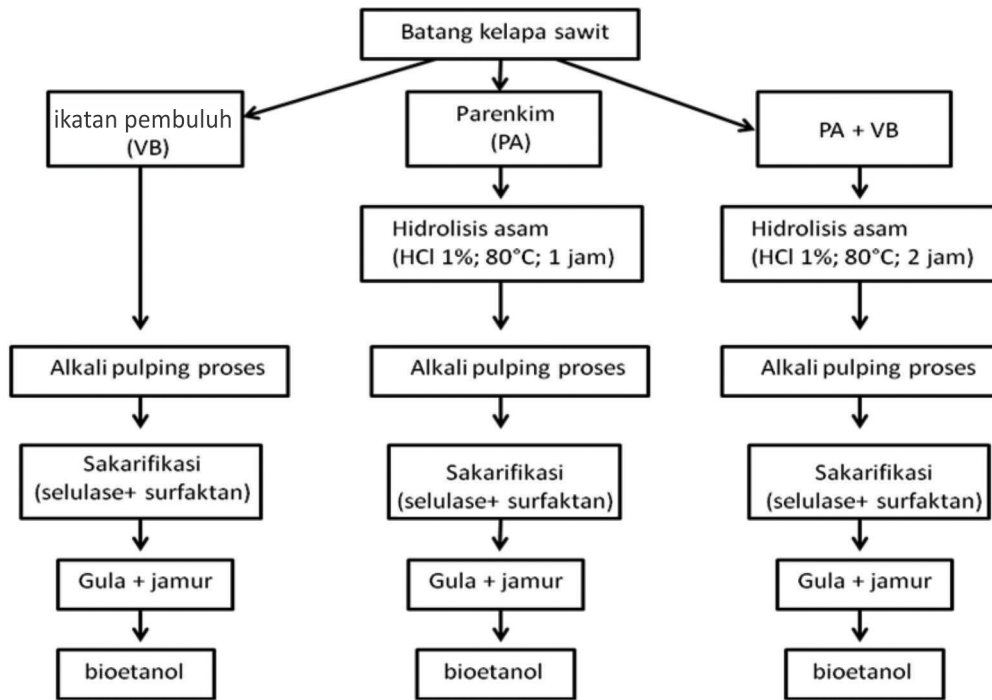
Batang kelapa sawit dipisah menjadi 3 bagian, yaitu : parenkim, ikatan pembuluh dan campuran parenkim dan ikatan pembuluh. Karena parenkim (P) dan campuran parenkim ikatan pembuluh (PVB) banyak mengandung pati, dihidrolisa menggunakan asam lemah terlebih dahulu (HCl 1%; 80°C; 1 jam). Kemudian dihilangkan sebagian besar kadar lignin dengan alkalin pulping (*pretreatment*) sesuai dengan metode yang digunakan pada penelitian sebelumnya (Winarni, Waluyo, Pari, Koda, & Yasumitsu, 2014).

3. Proses sakarifikasi

Proses sakarifikasi masing-masing bahan sampel (10%) menggunakan enzim selulase (10 dan 15 FPU/g substrat (w/v)) dan surfaktan Tween 20 (10%) dipersiapkan. Kontrol disiapkan tanpa penambahan surfaktan. Kemudian dimasukkan substrat dan dihidrolisa pada suhu 50°C selama 48 jam.

4. Proses fermentasi

Gula yang telah dihasilkan diambil sedikit untuk dianalisa kadar gula pereduksi dengan metode DNS (Miller, 1959). Sedangkan sisanya difermentasi dengan penambahan urea, NPK dan ragi (*Sacharomyces cerevisiae*) selama 3-4 hari. E tanol yang dihasilkan dianalisa menggunakan mesin Gas Chromatography (GC) dengan kondisi kolom OV 17; FID detektor; suhu initial 85°C; suhu final 100°C, suhu injek 150°C dan suhu detektor 200°C dengan pembawa gas nitrogen dan hidrogen.



Gambar 1. Skema tahapan produksi etanol
Figure 1. Ethanol production scheme

C. Analisis data

Rancangan penelitian yang dilakukan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan Percobaan Faktorial. Faktor pertama (A) Perlakuan bahan baku sebanyak 3 taraf, yaitu vaskular bundel (a1); parenkim (a2) dan vb + pa (a3). Faktor kedua (B) konsentrasi enzim terdiri dari 2 taraf, yaitu (b1) 10 FPU dan (b2) 15 FPU. Faktor ketiga (C) Penambahan surfaktan terdiri dari 2 taraf, yaitu menggunakan surfaktan (c1) dan kontrol/tanpa surfaktan (c). Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak 2 kali ulangan dan kontrol. Sehingga jumlah total kombinasi perlakuan $3 \times 2 \times 2 = 12$ kombinasi perlakuan.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Analisa Kimia Batang Sawit

Hasil analisa proksimat bahan baku dan pulp batang sawit dapat dilihat pada Tabel 1.

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa setelah dilakukan pemisahan bagian batang sawit, parenkim menunjukkan nilai kadar abu, ekstraktif, kelarutan dalam air dingin, alkohol benzena, kadar lignin, selulosa dan pati yang lebih tinggi

dibanding bagian lainnya (VB dan PVB). Parenkim merupakan bagian dalam batang yang masih banyak mengandung pati (22,8%), akan tetapi ternyata pada serat (VB) juga masih banyak mengandung pati (20,3%), sehingga dilakukan hidrolisis dengan asam lemah. Asam berkonsentrasi rendah dapat digunakan dalam proses solubilisasi dan hidrolisis pada pati, dengan asumsi selulosa tidak ikut terhidrolisis ketika hidrolisis pati menggunakan asam konsentrasi rendah. (Smith et al., 2006). Sedangkan untuk VB tidak dilakukan perlakuan pendahuluan untuk dilihat pengaruhnya pada proses produksi bioetanol.

Kadar lignin batang sawit pada semua bagian (P, VB, dan PVB) menunjukkan nilai yang sama tinggi antara 26-28%. Lignin dalam dinding sel menutupi selulosa sehingga enzim akan mengalami kesulitan untuk mengkonversi selulosa menjadi gula. Oleh karena itu perlu adanya delignifikasi atau *pretreatment* untuk mengurangi kadar lignin dalam sampel sebelum proses hidrolisis. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, tanpa delignifikasi, efisiensi hidrolisis akan menunjukkan hasil yang rendah ($< 20\%$) (Lynd, 1996). Alkali *pretreatment* merupakan salah satu metode yang efektif untuk meningkatkan

Tabel 1. Analisa Proksimat bahan baku dan pulp batang sawit
Table 1. Proximate analysis of raw material and oil palm trunk pulp

No	Parameter (Parameter)	Bahan baku(Raw material)			Pulp		
		P	VB	PVB	P	VB	PVB
1.	Kadar air (<i>Moisture content</i>)	10,5	9,88	10,4	10,4	9,56	10,6
2.	Kadar abu (<i>Ash content</i>)	6,73	6,14	2,87	-	-	-
3.	Kadar zat ekstraktif (alkohol benzene 1:2) (<i>Extractive content</i>)	8,30	6,17	8,80	-	-	-
4.	Kelarutan dalam air panas (<i>Hot water solubility</i>)	9,53	7,14	9,15	-	-	-
5.	Kelarutan dalam air dingin (<i>Cold water solubility</i>)	8,30	6,17	8,80	-	-	-
6.	Kelarutan dalam NaOH(<i>NaOH solubility</i>) 1%	14,7	18,6	29,6	-	-	-
7.	Kadar Kelarutan dalam alkohol benzene (<i>Alcohol benzene solubility</i>)	6,28	5,65	5,64	2,37	6,76	3,56
8.	Kadar Lignin (<i>Lignin content</i>)	28,9	26,7	28,5	14,9	13,7	6,96
9.	Kadar selulosa (<i>Cellulose content</i>)	49,9	53,45	50,08	79,02	78,18	81,1
10.	Kadar pati (<i>Starch content</i>)	22,8	20,3	14,4	13,5	12,4	5,88

Keterangan (Remarks) : P= parenkim (*parenchyma*); VB= ikatan pembuluh (*vascular bundle*); dan PVB= parenkim & ikatan pembuluh (*parenchyma and vascular bundle*)

area permukaan dengan menambah ukuran partikel biomasa, memutus ikatan antara lignin dan karbohidrat dan melarutkan beberapa lignin (Modenbach & Nokes, 2012). Setelah perlakuan alkalin pulping (*pretreatment*) pada semua sampel, kadar lignin batang sawit bagian P, VB dan PVB menunjukkan penurunan, yaitu 14,9; 13,7; 6,96% secara berurutan. Sehingga diharapkan, dengan menurunnya kadar lignin pada bahan substrat, hidrolisis enzimatis akan maksimal hasilnya. Seiring menurunnya kadar lignin, maka kadar selulosa bahan menjadi meningkat. Bagian PVB menunjukkan kadar selulosa yang tertinggi (81,1%) dibandingkan dua yang lainnya, sehingga menunjukkan bahan lignoselulosa yang cukup potensial untuk dijadikan bahan baku pembuatan bioetanol.

B. Kadar Gula Pereduksi Batang Sawit dengan Konsentrasi Enzim 10 & 15 FPU/ g Substrat

Pengukuran gula pereduksi merupakan parameter utama yang dianalisa pada proses hidrolisis sebelum dilakukan proses fermentasi untuk memproduksi etanol. Sebelum pengukuran, dibuat kurva kadar glukosa murni sebagai standar perhitungannya. Dari tabel dapat dilihat bahwa, konsentrasi enzim 10 FPU/g substrat menunjukkan semua perlakuan (P,VB, dan PVB) menggunakan surfaktan menghasilkan gula pereduksi sebelum fermentasi yang lebih besar dibandingkan tanpa surfaktan (kontrol). Bagian VB menghasilkan gula pereduksi tertinggi (63,1 g/l) dibandingkan dua lainnya. Nilai gula

pereduksi sebelum fermentasi atau besarnya glukosa yang dihasilkan selama proses hidrolisis sangat dipengaruhi oleh konsentrasi enzim yang digunakan dan bagian batang yang digunakan sebagai substrat untuk dihidrolisis.

Berdasarkan hasil penelitian pembuatan bioetanol dari ampas tebu dengan *pretreatment* perendaman 6% NaOH 12 jam, kemudian dihidrolisis dengan *crude* enzim selulase dari *Aspergillus niger* selama 120 jam menghasilkan kadar gula pereduksi sebanyak 54,47 mg/100 ml (Gunam, Aryanta, Bagus, & Darma, 2011). Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Kongkiattikajorn dan Yoonan (2006), yaitu hidro-lisis kulit ubi kayu menggunakan kombinasi enzim (amilase, amiloglukosidase, selulase, xylanase dan pektinase) pada pH 5, suhu 50°C selama 24 jam menghasilkan gula pereduksi sebanyak 54,14%.

Penggunaan konsentrasi enzim 15 FPU/g substrat menunjukkan semua perlakuan (P,VB, dan PVB) menggunakan surfaktan menghasilkan gula pereduksi sebelum fermentasi yang lebih

besar dibandingkan tanpa surfaktan (kontrol). Sedangkan dengan konsentrasi enzim 15 FPU/g substrat, PVB menghasilkan gula pereduksi tertinggi (59,8 g/l) dibandingkan dua lainnya, meskipun VB menghasilkan gula pereduksi yang tidak terlalu jauh berbeda, yaitu sebesar 56,9 g/l (Tabel3.)

Pada saat proses hidrolisis, rantai panjang polisakarida diputus oleh bantuan enzim yang spesifik, yaitu selulase menjadi gula rantai pendek atau glukosa. Sedangkan semua kadar gula pereduksi setelah fermentasi pada semua perlakuan mengalami penurunan, karena beberapa glukosa telah dirubah menjadi etanol oleh kerja ragi (Taherzadeh & Karimi, 2007).

Berdasarkan analisa statistik pengaruh perlakuan pembagian batang sawit (P, VB, dan PVB) berpengaruh tidak nyata pada kadar gula pereduksi sebelum fermentasi, dan berbeda sangat nyata terhadap pemberian surfaktan atau tidak pada konsentrasi enzim 10 dan 15 FPU/g substrat (Lampiran 1.) Sedangkan pengaruh

sugar content

Tabel 2. Kadar gula pereduksi sebelum dan sesudah fermentasi (10 FPU/ g substrat)

Table 2. Reduction sugar content before and after fermentation (10 FPU/g substrate)

No	Sampel (<i>Sample</i>)	Sebelum fermentasi (<i>Before fermentation</i>)(g/l)	Sesudah fermentasi (<i>After fermentation</i>)(g/l)
1.	P	18,9	10,4
	Kontrol (<i>Control</i>)	16,6	9,74
2.	VB	63,1	21,3
	Kontrol (<i>Control</i>)	30,2	20,7
3.	PVB	32,5	8,46
	Kontrol (<i>Control</i>)	36,9	8,12

Keterangan (*Remarks*) : P= parenkim (*parenchyma*); VB= ikatan pembuluh (*vascular bundle*); dan PVB= parenkim & ikatan pembuluh (*parenchyma and vascular bundle*)

Tabel 3. Kadar gula pereduksi sebelum dan sesudah fermentasi (15 FPU/ g substrat)

Table 3. Reduction sugar content before and after fermentation (15 FPU/g substrate)

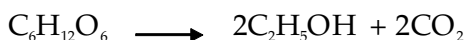
No	Sampel (<i>Sample</i>)	Sebelum fermentasi (<i>Before fermentation</i>) (g/l)	Sesudah fermentasi (<i>After fermentation</i>) (g/l)
1.	P	32,4	7,94
	Kontrol (<i>Control</i>)	25,2	8,85
2.	VB	56,9	27,1
	Kontrol (<i>Control</i>)	50,8	24,8
3.	PVB	59,8	15,3
	Kontrol (<i>Control</i>)	46,2	14,6

Keterangan (*Remarks*) : P= parenkim (*parenchyma*); VB= ikatan pembuluh (*vascular bundle*); dan PVB= parenkim & ikatan pembuluh (*parenchyma and vascular bundle*)

konsentrasi gula pereduksi sebelum fermentasi berpengaruh tidak nyata terhadap konsentrasi setelah fermentasi pada kedua konsentrasi enzim tersebut (10 dan 15 FPU/g substrat).

C. Kadar Etanol Batang Sawit dengan Konsentrasi Enzim 10 & 15 FPU/g Substrat

Fermentasi merupakan proses yang sangat penting dan sangat menentukan hasil pada proses pembuatan bioetanol. Fermentasi etanol adalah perubahan 1 mol glukosa (gula) menjadi 2 mol etanol dan 2 mol CO₂. Pada proses fermentasi etanol, kami akan melakukan metabolisme glukosa dan fruktosa membentuk asam piruvat melalui tahapan reaksi pada jalur *Embden-Meyerhof-Parnas*, sedangkan asam piruvat yang dihasilkan akan didekarboksilasi menjadi asetaldehid yang mengalami dehidrogenasi menjadi etanol. Reaksi pemecahan glukosa menjadi etanol seperti berikut ini:



Khamir atau ragi yang sering digunakan dalam fermentasi etanol adalah *Saccharomyces cerevisiae*, karena jenis ini dapat memproduksi tinggi, toleran terhadap alkohol yang cukup tinggi (12-18% v/v), tahan terhadap kadar gula yang tinggi dan tetap aktif melakukan fermentasi pada suhu 4-32 °C (Gaur, 2006). Pada penelitian ini, ragi yang digunakan berupa ragi roti dengan merk dagang fermipan.

Kadar etanol sampel dengan dua konsentrasi enzim (10 dan 15 FPU/g substrat) dapat dilihat pada Tabel 4. Dari tabel tersebut dapat dilihat bahwa semua perlakuan sampel menggunakan surfaktan, menghasilkan kadar etanol yang lebih

besar dari tanpa penambahan surfaktan (kontrol). VB menghasilkan kadar etanol tertinggi dibanding dua yang lainnya (0,91% dan 1,63%), pada kedua konsentrasi enzim (10 & 15 FPU/g substrat). Meskipun nilai tersebut masih lebih kecil dari kadar etanol kontrol gula yang diukur (6,85%). Kadar etanol dengan konsentrasi enzim 15 FPU/g substrat menghasilkan nilai yang cukup signifikan dibanding dengan 10 FPU/g substrat, kecuali pada PVB. Hal ini kemungkinan dikarenakan terjadi kesalahan pada waktu proses fermentasi. Seharusnya PVB dapat menghasilkan kadar etanol yang tinggi, karena memiliki kadar lignin yang paling rendah dibanding yang lainnya, dan menunjukkan kadar gula pereduksi tertinggi sebelum fermentasi pada 20 FPU/g substrat (Tabel 3). Dari hasil analisa fisik, kemungkinan disebabkan adanya jamur yang tumbuh pada saat proses fermentasi yang menyebabkan gula dalam sampel dikonsumsi oleh jamur atau mikroba, sehingga etanol yang dihasilkan menjadi rendah.

Lama waktu fermentasi secara umum akan mempengaruhi kadar bioetanol yang dihasilkan. Semakin lama waktu fermentasi, maka semakin tinggi kadar bioetanol yang dihasilkan. Akan tetapi, *Saccharomyces cerevisiae* memiliki keterbatasan untuk hidup pada kadar alkohol tertentu, sehingga perlu diketahui lama fermentasi yang tepat, agar diperoleh kadar etanol yang tinggi, kadar pH rendah, produksi gas tinggi tapi tidak mengganggu pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* (Azizah, Al-Baarri, & Mulyani, 2012). Chin, Hing, Wong, Tey, dan Paridah, (2010) menunjukkan bahwa kondisi optimum fermentasi untuk menghasilkan bioethanol dari lignoselulosa menggunakan ragi *Saccharomyces cerevisiae* adalah dengan menggunakan 33,2 °C dan pH 5,3.

Tabel 4. Kadar etanol limbah batang sawit (10 dan 15 FPU/ g substrat)

Table 4. Ethanol content of oil palm trunk waste (10 and 15 FPU/g substrate)

No	Sampel (Sample)	Kadar etanol (Ethanol content) (%)	
		10 FPU/g substrat	15 FPU/g substrat
1.	P	0,31	1,23
	Kontrol (Control)	0,11	0,95
2.	VB	0,91	1,63
	Kontrol (Control)	0,23	1,23
3.	PVB	0,38	0,48
	Kontrol (Control)	0,29	0,37

Keterangan(Remarks) : P= parenkim (*parenchyma*); VB= ikatan pembuluh (*vascular bundle*); dan PVB= parenkim & ikatan pembuluh (*parenchyma and vascular bundle*); FPU= Filter Paper Unit

Hasil penelitian Prawitwong et al. (2012) menunjukkan, hidrolisis 30% (w/v) parenkim batang sawit yang telah di *pretreatment* alkali yang dihidrolisis dan fermentasi secara bersamaan (HSS-SSF) pada suhu 32 °C, 150 rpm selama lima hari dengan memasukkan campuran enzim 18 FPU/g substrat selulase GODO-TCL konsentrasi dan 10 U/g substrat Novozyme-188 menghasilkan kadar etanol sebanyak 6,1% (w/v).

IV. KE SIMPULAN DAN SARAN

A. KE SIMPULAN

Penambahan surfaktan dapat meningkatkan kadar gula pereduksi dan kadar etanol. Kadar gula pereduksi sebelum (10 dan 15 FPU/g substrat) semua perlakuan pemisahan bagian batang sawit (P,VB dan PVB) lebih tinggi (16,6-63,1 g/l) dan (25-59,8 g/l) dibandingkan kontrol (8,12-20,7 g/l) dan (8,85-27,8 g/l). Semakin tinggi konsentrasi enzim yang diberikan pada saat hidrolisis, semakin tinggi kadar etanol yang dihasilkan setelah fermentasi. Batang sawit pada bagian parenkim (P), ikatan pembuluh (VB) dan campuran parenkim dengan ikatan pembuluh (PVB) menghasilkan kadar gula pereduksi sebelum fermentasi dan kadar etanol yang relatif sama.

B. SARAN

Perlu dilakukan perlakuan pendahuluan berupa hidrolisa asam lemah untuk bahan lignoselulosa yang juga mengandung pati dan penambahan surfaktan untuk meningkatkan kadar etanol yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

Anderson & Khalid. (2000). Decomposition process and nutrient release pattern of oil palm residu. *Journal of Oil Palm Research*, 12(1), 46-63.

Azizah, N., Al-Baarri, A.N., & Mulyani, S. (2012). Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar alkohol, pH dan produksi gas pada proses fermentasi bioetanol dari whey dengan substitusi kulit nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 1(2), 72-77.

Chin, K., Hing, P.S., Wong, L.J., Tey, B.T., & Paridah, M.T. (2010). Optimization study of ethanolic fermentation from oil palm trunk, rubberwood and mixed hardwood hydrolysates using *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresourae Technology*, 101(3), 3287-3291.

Gaur, K. (2006). *Process optimization for the production of ethanol via fermentation*. [Dissertation]. Departement of Biotechnology and Enviroment Sciences Thapar Institute of Engineering & Technology, Patiala Punjab, India.

Gunam, I.B.W., Aryanta, W.R., Bagus N., & Darma, S. (2011). Produksi selulase kasar dari kapang *Trichoderma viride* dengan perlakuan konsentrasi substrat ampas tebu dan lama fermentasi. *Jurnal Biologi* XV, 2, 29-33.

Kongkiattikajorn, J., & Yoonan, K. (2006). Conservation of cassava industry easte to fermentable sugar. *The 2nd Joint International Conference on "Sustainable Energy and Enviroment (SEE 2006)"*, 21-23 November 2006, Bangkok, Thailand.

Lynd L.R. (1996). Overview and evaluation of fuel ethanol from cellulosic biomass: Technology, economics, the environment, and policy. *Annu. Rev. Energy Environment*, 21, 403-65.

Miller, G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Journal Analysis of Chemistry*, 31(3), 426-428.

Modenbach, A.A. & Nokes. S.E. (2012). The use of high-solids loadings in biomass pretreatment-a review. *Biotechmol. Bioeng.*, 109, 1430-1442.

Nuryawan, A., Dalimuntheb A., & Saragih, R.N. (2012). Sifat fisik dan kimia ikatan pembuluh pada batang kelapa sawit. *Foresta* 1(2), 34-40.

Prawitwong, P., Kosugi, A., Arai, T., Deng L., Lee, K.C., Ibrahim, D., Murata, Y., Sulaiman, O., Hashim, R., Sudesh, K., Ibrahim, W.A., Saito, M., & Mori, Y. (2012). Efficient ethanol production from separated parenchyma and vascular bundle of oil

- palm trunk. *Bioresourae Technology*, 125, 37-42.
- Ridwansyah, M., Nasution, Z., Titi C., & Fauzi, M. (2007). Karakteristik sifat fisiko-kimia pati kelapa sawit. *Jurnal Teknik Industri Pertanian*, 17(1), 1-6.
- Smith, T.C., Kindred, J.M., Brosnan, J.M., Weightman, R.M, Sherperd, M., & Sylvester-Bradley, R. (2006). Wheat as a feedstock for alcohol production. *HGCA Research Review*, 61, 1-89.
- Taherzadeh, M.J., & Karimi, K. (2007). Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: A review. *Bioresouraes*, 2(3), 472-499.
- Winarni, I., Waluyo, T.K., Pari, G, Koda, K., & Yasumitsu, U. (2014). Enzymatic saccharification of soda pulp from starch waste using sago lignin-based amphipathic derivatives. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 34(3), 157-168.
- Wiratmaja, I.G. (2010). Pengujian karakteristik fisika biogasoline sebagai bahan bakar alternatif pengganti bensin murni. *Jurnal Ilmiah Teknik Mesin*, 4(2), 145-154.
- Wise, L.E. (1944). *Wood Chemistry*. New York : Reinhold Publisher Corporation.

Lampiran 1. Analisa sidik ragam pengaruh perlakuan terhadap kadar gula pereduksi sebelum fermentasi (10 & 15 FPU/ g substrat)

Appendix 1. Analysis of variance of treatments effects on reduction sugar content before fermentation (10 & 15 FPU/g substrate)

Sumber keragaman (Source of variance)	DB (df)	Jumlah kuadrat (Sum of square)	Kuadrat Tengah (Mean of square)	F hitung (F calculation)	Pr > F
Konsentrasi kadar gula pereduksi sebelum fermentasi (10 dan 15 FPU/g substrat) (concentration of reduction sugar content before fermentation (10 dan 15 FPU/g substrate) (M)	1	41,45095452	41,45095452	4,81	0,0367
Sampel atau kontrol (Control) (K)	1	774,06171554	154,81234311	17,97	0,0001
Perlakuan (Treatments) (H)	5	0,59347037	0,59347037	0,07	0,7949
Galat (Error)	28	241,1990688	8,61425217		
Total (Total)	35	1739,99686875			